

Hidrolisado de soro de leite e derivados: uma revisão da obtenção e bioatividades

Hydrolysate from whey and derivatives: a review of obtaining and bioactivities

DOI:10.34117/bjdv8n3-105

Recebimento dos originais: 25/02/2022

Aceitação para publicação: 09/03/2022

Crislaine da Rosa Santos

Graduanda em Engenharia Agroindustrial Agroquímica

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Campus Santo Antônio da

Patrulha – FURG SAP, Laboratório de Tecnologia Agroindustrial – LTAgro

Rua Barão do Cahy 125, Unidade - Cidade Alta, Santo Antônio da Patrulha – RS

E-mail: crislaine.rosa1103@gmail.com

Calebe de Hebrôm Livistom da Silva

Graduando em Engenharia Agroindustrial Agroquímica

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Campus Santo Antônio da

Patrulha – FURG SAP, Laboratório de Tecnologia Agroindustrial – LTAgro

Rua Barão do Cahy 125, Unidade - Cidade Alta, Santo Antônio da Patrulha – RS

E-mail: calebehlsilva@gmail.com

Meritaine da Rocha

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos – FURG

Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos, Campus Santo Antônio da

Patrulha – FURG SAP, Laboratório de Tecnologia Agroindustrial – LTAgro

Rua Barão do Cahy 125, Unidade - Cidade Alta, Santo Antônio da Patrulha – RS

E-mail: meritaine@gmail.com

RESUMO

O soro de leite é fonte de nutrientes, tais como as proteínas, que contribuem para aplicações industriais, devido às suas características funcionais como geleificantes, estabilizantes entre outros. Além disso, possuem muitos compostos bioativos, tais como a lactoferrina, que despertam o interesse devido a suas propriedades antimicrobianas, antitumorais entre outras. Devido a larga produção de soro de leite, este tem sido utilizado para o desenvolvimento de isolados e concentrados proteicos, que são largamente utilizados na indústria de alimentos. Neste contexto, estas matérias-primas podem ser utilizadas para o desenvolvimento de hidrolisados proteicos, por diversos métodos entre eles, a hidrólise enzimática que é preferida na indústria farmacêutica e de alimentos, devido a sua especificidade, a ser rápida e não deixar resíduos tóxicos no produto. Esses hidrolisados proteicos possuem inúmeras bioatividades, tais como antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, anti-hipertensiva, de inibição de enzimas tais como a dipeptidil peptidase IV (DPP IV), associada ao diabetes, entre outras. Estas bioatividades são dependentes da hidrólise enzimática, a qual é influenciada pela matéria prima, tipo de enzima, pH, temperatura, grau de hidrólise, perfil de massa molecular entre outros. Neste contexto, esta revisão teve por objetivo abordar os processos de obtenção do hidrolisados proteico de soro de leite bem como a influência de seus parâmetros nas características dos hidrolisados e nas bioatividades do mesmo.

Palavras-chave: leite, proteína, propriedades, enzimas, grau de hidrólise.

ABSTRACT

Whey is a source of nutrients, such as proteins, which contribute to industrial applications, due to its functional characteristics as gel-forming agents, stabilizers, among others. In addition, they have many bioactive compounds, such as lactoferrin, which arouse interest due to their antimicrobial, antitumor, and other properties. Due to the large production of whey, it has been used for the development of isolates and concentrates proteins, which are widely used in the food industry. In this context, these raw materials can be used for the development of hydrolyzed proteins, by several methods, including enzymatic hydrolysis, which is chosen by the pharmaceutical and food industry, due to its specificity, being fast, and not leaving toxic residues in the product. These hydrolyzed proteins have many bioactivities, such as antimicrobial, antioxidant, antitumor, antihypertensive, inhibiting enzymes such as dipeptidyl peptidase IV (DPP IV), associated with diabetes, among others. These bioactivities are dependent on enzymatic hydrolysis, which is influenced by raw material, enzyme type, pH, temperature, degree of hydrolysis, molecular weight profile, among others. In this context, this review aimed to address the process of obtaining hydrolyzed whey protein as well as the influence of its parameters on the hydrolyzed characteristics and its bioactivities.

Keywords: milk, proteins, properties, enzyme, degree of hydrolysis.

1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado um dos maiores *commodities* agropecuárias do mundo, um alimento rico em proteína e cálcio entre outros (ITAL, 2017). As projeções de produção brasileira de leite durante o período de 2020/2021 são de cerca de 36,3 bilhões de litros de leite (GASQUES et al., 2021). Neste contexto, no Brasil, 34% do leite produzido é destinado para a produção de um dos principais derivados lácteos consumidos, o queijo. O processo de produção de queijos, é basicamente o leite coagulado em forma enzimática, ácida ou uma combinação destas, gera como um subproduto que é o soro de leite (BEZERRA, 2018; CRUZ et al., 2018; MAIA, 2020).

O leite apresenta proteínas, dois grupos de proteínas tais como as caseínas, que corresponde entre 80 e 85% do total das proteínas que contém no leite são coaguladas na elaboração do queijo e as proteínas solúveis, que são os subprodutos da elaboração do queijo, as proteínas do soro de leite (CRUZ et al., 2018). Estima-se que para produção de 1 kg de queijo são necessárias aproximadamente 100 L de leite. Neste, contexto aproximadamente 90% do volume do leite utilizado corresponde ao subproduto soro de leite, que contém muitas proteínas tais como β -lactoglobulina (β -LG), α -lactalbumina (α -LA), imunoglobulinas e albumina de soro bovina (BSA) (CRUZ et al., 2018; SOUZA et al., 2019; STEFFENS et al. 2020).

Em alguns laticínios de pequeno porte este subproduto é descartado juntamente com os demais efluentes, o que acarreta problemas ambientais como a eutrofização das águas

(BERNARDI, 2020; SOUZA et al., 2019). Entretanto, nas últimas décadas muitas pesquisas estão sendo realizadas para o uso do soro de leite e derivados para a elaboração de produtos alternativos, ao uso para a elaboração de bebidas lácteas, tais como os hidrolisados proteicos de soro de leite e derivados (ELIAS et al., 2008; MINJ et al. 2020; STEFFENS et al. 2020).

Estes podem ser obtidos através de diferentes processos como a hidrólise enzimática, alcalina, ácida e processo de fermentação entre outros (NAJAFIAN; BABJI, 2012). Contudo, a aplicação de enzimas para a elaboração dos hidrolisados proteicos, com consequente obtenção de peptídeos, faz com que a hidrólise seja específica e controlada. Segundo Abreu (2017) a hidrólise enzimática por ser de fácil controle, favorece o aumento da atividade biológica dos peptídeos bioativos, gerados após a quebra de ligações peptídicas, que antes eram inativos dentro da sequência de proteína e agora originando um subproduto com menor massa molecular, liberado através do processo de hidrólise. Os peptídeos bioativos são fragmentos específicos derivados das proteínas e possuem efeitos benéficos aos seres humanos, pois exibem diferentes funções fisiológicas e nutricionais, complementando as necessidades não supridas pela alimentação convencional (SOUZA et al., 2019),

Os peptídeos bioativos, possuem diversas aplicabilidade, devido ao seu alto teor de aminoácidos pode atuar na reparação e reconstrução muscular por conter especialmente valina, isoleucina e leucina (LORENZETTI, 2018); redução do risco cardiovascular (MINJ et al. 2020; MORENO-NAVARRETE, 2008), atividade antioxidante (STEFFENS et al. 2020), devido a reatividade dos radicais livres com seus aminoácidos, fazendo com que diminua a capacidade de oxidar lipídios (ELIAS et al., 2008) atividade antimicrobiana (SOUZA PALU et al. 2019), devido ao seu efeito sobre micro-organismos patogênicos ocasionado pela lactoferrina e outros componentes (MORENO-NAVARRETE, 2008). Neste contexto, a presente revisão tem como objetivo apresentar os diferentes métodos de obtenção de hidrolisado proteico de soro de leite e seus derivados, bem como as suas bioatividades.

2 SORO DO LEITE

O soro de leite tem como principais aplicações nas indústrias, para a elaboração de bebidas lácteas e suplementos alimentares, devido às suas características funcionais (geleificante, estabilizante, emulsificante, espumante) e nutricionais. Além disso, ele pode ser empregado para a obtenção de como isolado proteico ou de concentrado soro de leite para diferentes utilidades (SILVA, et al. 2017; SOUZA, et al., 2019; WARNCKE et al., 2022).

Durante a elaboração do queijo, a principal proteína responsável pela formação da massa é a caseína, enquanto as proteínas que contém no soro, as quais são solúveis, são separadas da massa,

sendo este subproduto denominado de soro de leite (DINIKA et al., 2020). Estima-se que aproximadamente 90% do volume do leite utilizado para a produção do queijo resultam em soro de leite. A fim de minimizar o impacto ambiental dos subprodutos da produção de queijo, uma série de tecnologias estão sendo empregadas para converter os subprodutos, tais como o soro de leite, em produtos de valor agregado (SILVA et al., 2017).

O soro de leite pode apresentar sua composição química variável, pois a mesma depende da forma de obtenção, da alimentação dos animais, entre outros. Entretanto, independentemente da forma de obtenção, este possui um elevado valor nutricional sendo considerado uma importante fonte de proteína para o consumo humano. As proteínas que contém no soro do leite são conhecidas pela versatilidade de seus atributos funcionais (SILVA, et al. 2017; WARNCKE et al., 2022). Segundo Haraguchi et al. (2006) o concentrado proteico do soro do leite, um derivado do soro de leite, contém em média 80% de proteína, 8% de carboidratos, além de ser rico em aminoácidos, tais como o leucina, ácido aspártico, lisina, de treonina, metionina e isoleucina. Além disso, possui os minerais ferro, sódio e cálcio, vitaminas e um conteúdo baixo de gordura do leite (NUNES et al., 2015).

De acordo com Silva (2017) uma quantidade substancial de soro de leite é descartada anualmente no Brasil, no qual é um resíduo industrial, ocasionando um grave impacto ambiental. Estima-se que as pequenas indústrias de laticínios descartam nos rios 40% do soro de leite sem nenhum tratamento, o que ocasiona impactos ambientais devido a sua alta carga orgânica. Devido a isso, o mesmo pode ser utilizado como matéria-prima para a elaboração de produtos com elevado valor agregado, tais como ingredientes de bebidas lácteas (HENRIQUES et al., 2020), estabilizante (SOUZA et al., 2019), suplementos alimentares (SILVA et al., 2017) entre outros.

Os estudos recentes *in vitro* indicaram, que a ingestão de proteínas hidrolisadas isoladas do soro do leite com peptídeos bioativos pode reduzir a pressão sanguínea, inibir ou eliminar micro-organismos (SOUZA PALU et al., 2019), além das outras propriedades, tais como antioxidante e anti-inflamatória, anti-obesidade, anticancerígena, imunomoduladores e anti-hipertensiva (LORENZETTI, 2018), antiúlcera (SGARBIERI, 2004) entre outras. Desta forma, os peptídeos bioativos são fragmentos das proteínas do soro do leite (LORENZETTI, 2018) e seus efeitos promissores na saúde ocorrem devido a presença da sequência de aminoácidos, massa molecular, entre outros (SILVA, 2019).

2.1 PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE

O soro de leite líquido bovino apresenta cerca de 20% da quantidade total de conteúdo proteico do leite (SGARBIERI, 2004; CRUZ et al., 2018). Ele é um subproduto largamente

produzido em indústrias de produção de queijos, o qual contém cerca de 50% dos nutrientes presentes no leite. Neste contexto, as proteínas são o constituinte mais importante do soro de leite entre elas β -lactoglobulina (β -LG), α -lactoalbumina (ALA), imunoglobulinas (Ig's), albumina do soro bovino (BSA), glicomacropéptidos (GMP), lactoferrina entre outras (GARCIA, 2017).

A lactoglobulina é a proteína que possui em maior quantidade (45% a 57%) possuindo elevado teor de aminoácidos como leucina, valina e isoleucina, a lactoalbumina correspondendo cerca de (15% a 25%), possuindo uma capacidade de fácil digestão e contém o triptofano, lisina, leucina treonina e subfrações lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase (GARCIA, 2017). As proteínas como as imunoglobulinas, glicomacropéptido e em pequenas frações a lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase, que fornecem propriedades antimicrobianas, ações imunoestimuladoras, entre outras (ALVES et al., 2016).

A Tabela 1 apresenta a composição das frações de proteínas que contém no soro de leite, massa molecular (kDa) e atividade biológica de cada fração proteica que foram investigadas nos últimos anos. As frações proteicas em maior quantidade são as β -lactoglobulina (β -LG), que possuem massa molecular de cerca de 18,00 a 36,8 kDa, com baixa resistência em pH ácido e temperaturas elevadas, contém cerca de 162 aminoácidos em sua molécula. Conforme Verdi (2017) esses peptídeos possuem atividades biológicas como anti-hipertensiva (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2008), antioxidante (COSTA et al., 2021), antimicrobiana e imunoestimulante (MINJ et al., 2020).

A α -lactoalbumina (α -LA) é considerada a segunda maior fração de proteína do soro, a única fração adequada para se ligar a certos minerais, tais como zinco e cálcio, alterando positivamente sua capacidade de absorção, massa molecular (14 kDa), formada por 123 resíduos de aminoácidos. Os peptídeos oriundos da α -lactoalbumina (α -LA) apresentam propriedades antimicrobianas (SOUZA, et al., 2019; STEFFENS, et al., 2020). Além disso, os aminoácidos essenciais (como triptofano, vitamina hidrossolúvel e precursor de niacina) desempenham uma função vital na reposição do metabolismo energético celular, tendo em vista propriedades anticancerígenas (LORENZETTI, 2018).

A albumina é uma proteína que contém cerca de 582 aminoácidos, massa molecular alta (66 kDa). Uma de suas principais funções é facilitar o deslocamento de ácidos graxos que estão presentes na corrente sanguínea, desenvolvendo atividades funcionais, apontada como uma precursora da síntese glutatona, peptídeo capaz de aumentar a atividade imune de portadores de *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), além de terem também atividade anticancerígena (COSTA et al., 2021; BALDASSO, 2008; MINJ et al., 2020).

Tabela 1 – Atividades biológicas das frações proteicas do soro de leite

Fração Proteica	Massa Molecular (kDa)	Atividade Biológica	Referência
β -lactoglobulina (β -LG)	18-36	Anti-hipertensiva, antioxidante e antimicrobiana	(HERNÁNDEZ, et al., 2008) (COSTA, et al., 2021) (MINJ, et al.,2020)
α -lactoalbumina (α -LA)	14	Antimicrobiana e anticancerígena	(SOUZA, et al., 2019) (LORENZETTI, 2018) (STEFFENS, et al., 2020)
Albumina	66	Precursora da síntese glutatona, anticancerígena, vincular ácido graxos e antimutagênica	(BALDASSO, 2008) (MINJ, et al.,2020)
Imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM e IgE)	150-1.000	Antioxidante, antifúngico e estimulam a produção linfócitos	(SOUZA, 2017) (ROCHA, et al., 2017) (LORENZETTI, 2018) (MINJ, et al., 2020) (LUPKI, et al., 2019)
Lactoferrina	78-80	Imunoestimuladora, ação antiviral, anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e auxilia na absorção do ferro	(VERDI, 2017) (KRISSEN, 2007) (ELZOGHBY, et al., 2020) (FARNAUD, et al., 2003) (REDWAN, et al., 2014)
Lactoperoxidase	78	Antimicrobiana, antioxidante e antiviral	(XIONG, et al., 2020) (MINJ, et al.,2020) (ZHAO, et al., 2020) (COSTA, et al., 2021)

As imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM e IgE), sendo a IgG a principal, apresentam uma massa molecular alterando de (150 a 1.000 kDa) (GEORGE et al., 2013; LORENZETTI, 2018). As principais ações biológicas estão na atividade antioxidante e antifúngica. Além disso, apresentam proteção contra infecções, estimulando a geração de linfócitos (LUPKI et al., 2019; VERDI, 2017; LORENZETTI, 2018). O glicomacropéptido (GMP) é um péptido obtido através da digestão da κ -caseína, apresenta massa molecular aproximada de cerca de 6 a 7 kDa. Além disso, apresenta alto teor de aminoácidos primordiais para a saúde humana, no qual possui grande tolerância ao calor e mudanças de pH (SOUZA et al., 2019; ROCHA, et al., 2017).

De acordo com Verdi (2017), considerada uma glicoproteína, a lactoferrina faz ligação de ferro multifuncional, pertencendo à família da transferrina é formada por 689 aminoácidos, massa molecular entre 78 e 80 kDa. Esta apresenta atividade imunomoduladora, antioxidante, ação antiviral, antibacteriana e anti-inflamatória (KRISSENSSEN, 2007; ALMEIDA et al., 2013), auxilia na absorção do ferro no organismo (ELZOGHBY et al., 2020) capaz de impossibilitar a proliferação e a multiplicação de bactérias gram-positivas e gram-negativas, bem como as leveduras (REDWAN, et al., 2014), possui atividade antifúngica, antimicrobiana, entre outras (FARNAUD et al., 2003).

Segundo Minj et al. (2020), a lactoperoxidase contém 612 resíduos de aminoácidos, de uma única cadeia polipeptídica, que apresenta massa molecular média de 78 kDa. Além disso, esta pertence a família das peroxidases, que são um grupo de enzimas capaz de catalisar a peroxidação de tiocianato e alguns haletos para produzir componentes que inibem a multiplicação de uma variedade de bactérias, responsáveis pela ação de atividades antioxidantes, antimicrobiana, e antiviral (XIONG, et al., 2020; ZHAO, et al., 2020).

As proteínas do soro do leite são reconhecidas apresentam-se importantes à saúde humana, como ingredientes saudáveis, associados à sua ingestão regular (Shang, et al., 2018), apresentam funcionalidades, excelente capacidade de retenção de água atuando na solubilidade e viscosidade, capacidade de aeração, atividades antibacteriana, antioxidante, ação antiviral, podendo ser utilizado amplamente na indústria alimentícia ou como suplemento alimentar (PEREIRA, 2019).

3 HIDROLISADO PROTEICO

Os hidrolisados proteicos são oriundos, a partir da quebra das proteínas e resultam em uma mistura complexa de péptidos de diferentes comprimentos de cadeia, com os aminoácidos livres e massa molecular. Os péptidos bioativos são produzidos, principalmente, através de processos como a hidrólise. Muitos métodos são utilizados para se obter a hidrólise de proteico, podendo ser

de forma enzimática, alcalina ou química. O método químico, ácido e alcalino é menos aplicado devido ao difícil controle da reação, e a constituição dos aminoácidos para aplicação em alimentos. Contudo, o desenvolvimento pelo método enzimático tem sido largamente utilizado (LORENZETTI, 2018). A hidrólise enzimática é preferida, na indústria de alimentos e farmacêutica, devido ao seu curto tempo de reação, onde a enzima atua na quebra de ligações de acordo com relação enzima e substrato, especificidade e parâmetros de pH e temperatura utilizados (NAJAFIAN; BABJI, 2012; NAJAFIAN et al., 2014; HIJAZIN, et al. 2010).

Na hidrólise enzimática, as enzimas, que atuam como catalisadores dos processos biológicos e são responsáveis por acelerar as reações, quebram as ligações peptídicas, aumentando a extensão da hidrólise com o tempo, até um determinado grau de hidrólise. Além disso, não deixam resíduos tóxicos de solventes, apresentando um produto final com propriedades bioativas de interesse (NAJAFIAN; BABJI, 2012; MARGON et al., 2018). A extensão da proteólise é avaliada pelo grau de hidrólise (GH), referente ao percentual de clivagem das ligações peptídicas de uma proteína. A avaliação do GH depende de três princípios básicos: do teor de nitrogênio liberado pela hidrólise da proteína, na presença de um agente precipitante; da determinação de grupos amino livres e da titulação de prótons liberados (ELZOGHBY et al., 2020).

O GH é monitorado para determinar a liberação dos aminoácidos e com isso a extensão do processo de hidrólise enzimática. Este pode ser determinado através de diferentes métodos baseados na determinação dos grupos α -amino livres (ADLER-NISSEN, 1986; SILVA et al., 2009). O monitoramento do GH pelo método *pH-stat* é acompanhado através da adição de base ou ácido, com o objetivo de manter o pH constante, quando a hidrólise é realizada em condições alcalinas e neutras (ADLER-NISSEN, 1986).

De acordo com Lorenzetti (2018), as proteases que auxiliam na quebra ligações peptídicas, empregadas como catalisadores, que atuam para aumentar a velocidade de uma reação ou para facilitar a mesma. Dentro deste contexto, tem-se são nomeadas como proteinases as endopeptidases, enzimas que clivam ligações peptídicas internas da molécula de proteína, ou exopeptidases quando clivam as porções amino ou carboxiterminal.

Diferentes enzimas, tais como Alcalase, Flavourzyme, pepsina, papaína, queratinase, corolase, tripsina, pancreatina e mistura de enzimas proteolíticas podem ser utilizadas para a obtenção de hidrolisados proteicos. Contudo, a escolha deve estar baseada no tipo de produto que se deseja obter, a ação de quebra peptídica depende da enzima mais adequada, no caso de hidrólise enzimática de proteína, são utilizadas proteases como a pepsina, papaína, queratinase e savinase (LORENZETTI, 2018) tripsina e quimiotripsina (KAMAL et al., 2018) Alcalase e, Flavourzyme (SOUZA et al., 2019), para a formação de peptídeos com atividade biológica, cada enzima

apresenta características distintas e por esta razão é importante fazer a escolha de acordo com as pretensões desejadas (ALVES, 2016).

Uma enzima largamente utilizada é a Alcalase uma endopeptidase produzida pela fermentação submersa bacteriana do *Bacillus licheniformis*. Esta enzima possui sua atividade em pH alcalino e em alcalina moderada utilizado em altas faixas de temperatura de 50 à 70 °C, aplicado em diferentes substratos como, soro de leite bovino (SOUZA, et al., 2019; VERDI, 2017), soro de leite de bubalino (SILVA, 2017), resíduos de filé de pescado (MIRAHMADIZADEH et al., 2017), resíduos de frango (SCHMIDT et al., 2020).

A pepsina é uma endopeptidase que apresenta dissolução ácida, simulando o fluido gástrico, que atua em pH ácido entre pH 1 e 3, não possui efeito em pH básico e atua em temperatura 37 °C (GUZMAN, 2016). A pepsina é considerada uma protease aspártica, utilizando um aspartato catalítico em seu sítio ativo atuando no sistema digestivo (HEDA et al., 2020).

De acordo com Souza et al. (2019) a Flavourzyme é composta por aminopeptidases, dipeptidil peptidases e endopeptidases. As aminopeptidases atuam sobre as ligações peptídicas, auxiliando na quebra de ligações peptídicas nas extremidades e no meio da proteína. Segundo Kamal et al. (2018) em pesquisas atuais vem sendo aplicada amplamente a hidrólise de soro de leite, a fim de se obter hidrolisados proteicos com inúmeras bioatividades, como atividade antioxidante, antimicrobiana (SOUZA et al., 2019; STEFFENS, et al., 2020), antibacteriana (LIMA, 2018), anti-inflamatória (KAMAL et al., 2018) entre outras.

3.1 OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS DE SORO DE LEITE E DERIVADOS

A Tabela 2 apresenta diferentes estudos realizados com hidrolisado proteico de soro de leite e derivados. A hidrólise enzimática é influenciada pela matéria prima, tipo de enzima, grau de hidrólise, tempo de hidrólise, pH, temperatura, entre outros (LORENZETTI, 2018; ABREU, 2019; LIMA, 2018; SOUZA et al., 2019; SILVA, 2017).

Lima (2018) elaborou o hidrolisado proteico com 35,5% de grau de hidrólise (GH), a partir de soro de leite de caprino (64% de proteína solúvel), utilizando a pepsina como enzima a 30 °C e em pH 2,0, através do método de hidrólise enzimática *in vitro*. Este hidrolisado apresentou inibição de cerca de 20%, frente a multiplicação bacteriana da *Salmonella spp* e *Escherichia coli*. Para a *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* o hidrolisado testado apresentou uma inibição superior a 30% da multiplicação bacteriana.

Tabela 2 – Parâmetros para a obtenção de hidrolisados proteicos por via enzimática

Matéria Prima	Concentração de proteína	Enzimas	pH	Tempo	Temperatura (°C)	Grau de Hidrólise (%)	Bioatividade	Referência
Soro de leite de caprino	64%	Pepsina	2,0	2 h	30	35,5	Antibacteriana	(LIMA, 2018)
Soro de leite de bovino	8%	Pepsina	2,5	2 h	37	26,5	Reconstrução, reparo muscular e antimicrobiano	(LORENZETTI, 2018)
		Papaína	5,0		55	23		
		Savinase®	7,0		50	17,5		
Soro de leite de bovino	34%	Queratinase	6,5	4 h	65	17	Antioxidante e antimicrobiano	(SOUZA et al., 2019)
		Alcalase®	8,0		60	15		
Soro de leite de ovino	10%	Flavourzyme	7,0	4 h	50	15	Antioxidante e antimicrobiano	(STEFFENS et al., 2020)
Soro de leite de camelo	3%	Corolase	8,0	6 h	60	10	Antioxidante e antimicrobiano	(KAMAL et al., 2018)
		Pepsina	4,6	6 h	37	23	Anti-inflamatória, antiproliferativas, antidiabéticas, e alimento funcional;	
Soro de leite de bovino	82%	Tripsina	4,6	6 h	55	23	Anti-inflamatória, antiproliferativas, antidiabéticas, e alimento funcional;	(KAMAL et al., 2018)
Soro de leite de bubalino	82%	Quimiotripsina	4,6	6 h	55	23	Anti-inflamatória, antiproliferativas, antidiabéticas, e alimento funcional;	(KAMAL et al., 2018)
Soro de leite de bovino	82%	Alcalase®	8,5	5 h	55	22,81	Antioxidante	(VERDI, 2017)
Soro de leite de bubalino	10%	Alcalase®	8,0	4 h	50	28	Antioxidante	(SILVA, 2017)
Concentrado de Soro de leite de bovino	80%	-	6,0	-	80	1	Antioxidante	(LUPKI et al., 2019)
Concentrado de Soro de leite de bovino	80%	-	7,0	-	80	1	Antioxidante	(LUPKI et al., 2019)
Concentrado de Soro de leite de bovino	80%	α -quimiotripsina	7,5	30 min	400 Mpa (tratamento de alta pressão)	80	Antioxidante	(AMBROSI et al., 2016)
Concentrado de Soro de leite de bovino	80%	bromelaína	6,5	30 min				
Concentrado de Soro de leite de bovino	80%	Protease aspártica	6,0	20 min	40	80	Antioxidante	(ROCHA et al., 2017)

Lorenzetti (2018) também utilizou as enzimas: pepsina, papaína, queratinase e Savinase®, para a obtenção de hidrolisado proteico de soro de leite bovino (8% de proteína), as quais apresentaram o grau de hidrólise de 26,5%, 22,89%, 17,5% e 17%, respectivamente. Estes hidrolisados foram obtidos com a temperatura 37, 50, 65 e 50 °C e pH 2,5; 6; 7,0 e 6,5 respectivamente. Os hidrolisados foram obtidos utilizando reator com agitação mecânica empregando o método de Sorensen. Os melhores resultados de GH da pepsina e papaína foram submetidos ao pré-tratamento com ultrassom, no qual não alterou o grau de hidrólise. Contudo, Silva et al. (2010) também observaram que a papaína teve uma alteração em suas partículas após a atuação do ultrassom.

Kamal et al. (2018), utilizaram como matéria-prima o soro de leite de camelo (3% de proteína) e como enzimas a pepsina, tripsina e quimiotripsina em temperaturas de processo variando de 37 a 55 °C em 6 h de hidrólise. Estes autores verificaram que o hidrolisado obtido pela pepsina apresentou atividade antidiabética, atuando na inibição de α -glucosidase e α -amilase. Ngoh et al. (2016) em seu estudo observaram, que a inibição de α -amilase ocorreu, principalmente, na presença de peptídeos mais curtos atuando na inibição do diabetes e com a capacidade anti-inflamatória. Além disso, o hidrolisado obtido pela tripsina também apresentou atividade anti-inflamatória.

Aguilar-Toalá et al. (2017) observaram atuação anti-inflamatória, anti-oxidante e antimicrobiana com hidrolisado bovino produzido a partir da fermentação com *Lactobacillus plantarum*. Os hidrolisados produzidos utilizando a quimiotripsina apresentam maior atividade anticancerígena atuando na vitalidade celular cancerígena, conforme demonstrado por Homayouni-Tabrizi et al. (2017), que identificaram em seu estudo que o hidrolisado tem a capacidade de ocasionar efeito tóxico na célula cancerígena.

A pepsina é uma enzima que apresenta boas atividades frente a diferentes substratos, tais como concentrado proteico ou soro de leite de camelo, bovino e caprino. A pepsina é uma endopeptidase com afinidade por ligações peptídicas, que envolvem o grupo carboxila de aromáticos, realizando ligações internas das proteínas. Como citado anteriormente, ela atua em meio ácido possuindo alta afinidade em pH ácido (abaixo de 4). Esta é classificada como uma protease que atua na degradação da proteína pelos seus extremos, favorecendo a hidrólise enzimática de diversas matérias-primas (ABREU, 2019; LORENZETTI, 2018).

Outras enzimas, tais como a Alcalase que também possuem a capacidade de atuar em diferentes substratos, obtendo um elevado GH. Souza et al. (2019) avaliaram as atividades antioxidante e antimicrobiana de hidrolisados proteicos de soro de leite de bovino, obtidos por diferentes proteases Alcalase e Flavourzyme, empregando o método *pH-stat*. Para a enzima

Alcalase foram utilizados os parâmetros de 60 °C e pH 8,0 e para a Flavourzyme os parâmetros foram de 50 °C e pH 7, onde obtiveram um GH de 63% e 15%, respectivamente. A atividade antioxidante obtida do hidrolisado pela enzima Alcalase, apresentou maior atividade antioxidante, quando comparada com a Flavourzyme. Estes resultados podem ocorrer, devido ao fato da influência da enzima no número e na localização das ligações peptídicas clivadas na hidrólise, resultando na liberação de diferentes peptídeos quanto ao tamanho e à composição de aminoácidos favorecendo a ação antioxidante. Silva (2017) utilizou a enzima Alcalase para hidrolisar o soro de leite de búfala, a 50 °C durante 4 h em pH 8. Este hidrolisado foi avaliado na inibição do escurecimento da maçã Red Delicious minimamente processada. Após os ensaios *in vitro*, observou-se que o hidrolisado testado apresentou capacidade de inibição do escurecimento de maçãs.

De acordo com Pereira (2019) a proteína do soro de leite contém propriedades bioativas que podem ser benéficas à saúde humana. Os peptídeos bioativos da proteína estão inativos quando se encontram em sua sequência proteica, mas a partir da hidrólise enzimática, utilizando enzimas como pepsina e tripsina entre outras, pode-se obter a liberação destes peptídeos, que apresentam atividades bioativas, tais como antimicrobiana, antimicrobiana entre outras (LIMA, 2018). Segundo Lukpi (2018) os hidrolisados de soro de leite têm sido amplamente estudados para a obtenção de peptídeos bioativos e também podem ser utilizados em formulações para indivíduos que possuem intolerância alimentar ocasionada pela proteína intacta, auxiliando na redução de riscos de doenças crônicas e aumentando a proteção natural do organismo.

Steffens et al. (2020) utilizaram como substrato o soro de leite de ovino e a enzima colorase para obter hidrolisados proteico com propriedades antimicrobianas e antioxidantes, assim como Souza et al. (2019), os quais avaliaram as mesmas bioatividades, porém com as enzimas Alcalase e Flavourzyme. Estes resultados demonstram que diferentes enzimas utilizadas, podem resultar na produção de hidrolisados com diferentes capacidades bioativas, que dependem do tipo de peptídeo produzido, massa molecular, sequência aminoacídica entre outras.

4 BIOATIVIDADES DOS HIDROLISADOS

4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A deterioração microbiana é um processo que ocorre com os alimentos, ocasionado pela ação de micro-organismos, denominados de deteriorantes, que se desenvolvem no alimento resultando em mudança da aparência, alteração de textura e liberação de odores, entre outras (BAPTISTA, 2003). Alguns dos principais micro-organismos deteriorantes são as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. e outras bactérias psicotróficas (GRAM et al., 2002). Baptista (2003)

indica ainda que há certos micro-organismos, que se desenvolvem nos alimentos e podem representar um perigo para o consumidor, pois são causadores das doenças transmitidas por alimentos (DTA's), são os chamados micro-organismos patogênicos. Contudo, os alimentos contaminados por eles não apresentam sinais de deterioração.

Os conservantes sintéticos largamente utilizados pela indústria, como metabissulfito de sódio, benzoato de sódio, sorbato de potássio, nitrito de sódio, lactato de sódio entre outros apresentam certo nível de toxidez, quando consumidos por seres humanos em concentrações elevadas, acima do permitido pela legislação, que dependem do tipo de alimento em que são adicionados (LÓPEZ, 2009). Entretanto, um problema encontrado em análises dos alimentos são as concentrações de conservantes acima destes limites, o que pode desencadear reações alérgicas relacionadas ao aparecimento de urticárias, rinite, asma e também choque anafilático (LÓPEZ, 2009). Nesse sentido, torna-se interessante estudar a atividade antimicrobiana apresentada por substâncias naturais, dentre elas os peptídeos bioativos obtidos a partir de hidrolisados proteicos de diferentes matérias-primas, tais como o pescado, carnes, soro de leite e derivados (GONÇALVES, 2019; FRIES et al., 2018; XIONG et al., 2020; ZHAO et al., 2020; LORENZETTI, 2018).

Os compostos presentes no soro de leite e derivados, tais como α -lactalbumina, glicomacropéptido, β -lactoglobulina, imunoglobulinas, albumina e lactoferrina apresentam atividade antimicrobiana ou são precursoras para os peptídeos bioativos com essa atividade. A principal forma de ação antimicrobiana destas substâncias é o ataque que realizam na membrana plasmática, que apresenta vários grupos funcionais com carga elétrica negativa, tais como lipopolissacarídeos, no caso de bactérias Gram-negativas ou o ácido teicóico, no caso de bactérias Gram-positivas. Este ataque pode tanto inibir estes grupamentos funcionais e levar ao rompimento da membrana plasmática, quanto promover a inserção de porções apolares dos peptídeos bioativos através da bicamada lipídica, desencadeado o extravasamento do conteúdo citoplasmático e a morte da célula (MOHANTY et al., 2015).

A lactoferrina possui a capacidade de interagir diretamente, através de sua porção N-terminal, que apresenta elevado caráter catiônico, com a camada de lipopolissacarídeos carregados negativamente de bactérias Gram-negativas, o que causa danos à membrana celular. Ela foi identificada em diferentes matérias-primas, tais como o no soro de leite bovino (SOUZA et al., 2019), soro de leite ovino (STEFFENS et al., 2020), soro de leite caprino (LIMA, 2018). Entre as diversas matérias-primas, acredita-se que o soro de leite de camelo é o que possui maior efetividade em sua ação antimicrobiana porque apresenta em sua sequência proteica maior quantidade de lactoferrina, em comparação ao leite bovino por exemplo (KAMAL, et al. 2018).

A importância da lactoferrina na inibição da multiplicação microbiana foi demonstrada no trabalho de Xiong et al. (2020), onde utilizaram o soro de leite isolado obtido a partir de leite bovino desnatado tratado termicamente em temperatura que variam de 65 a 85 °C durante 30 min. Eles verificaram, que a temperatura utilizada no tratamento térmico do leite foi inversamente proporcional ao efeito antimicrobiano do soro de leite avaliado frente às bactérias *Streptococcus thermophilus*, *Escherichia coli*, *Lactococcus lactis* e *Pseudomonas fluorescens*, pois a lactoferrina apresentava desnaturação com acréscimo na temperatura. Além disso, a lactoferrina desnaturada precipitava durante a etapa de coagulação ácida da caseína e com isso estava em menor concentração no soro de leite, Brick et al. (2017) em seu estudo identificaram, que quando aquecida a capacidade bacteriostática diminui sendo assim estando diretamente relacionada com o tratamento térmico.

A produção de derivados do soro de leite, tais como os hidrolisados proteicos, pode potencializar a atividade antimicrobiana em relação àquela observada somente para o soro. Isto foi verificado por Osman et. al. (2015), que elaboraram um hidrolisado de soro de leite caprino utilizando a enzima Alcalase por 240 min, a 55 °C e pH de 7,8 atingindo um grau de hidrólise de 28%. Este hidrolisado foi fracionado, com diferenças no perfil de massa molecular. Em seguida, as amostras das frações do hidrolisado, na concentração de 10 mg/mL, foram avaliadas frente às bactérias Gram-negativas (*Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*) e contra duas cepas de bactérias Gram-positivas (*Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*). As frações do hidrolisado testado, com massa molecular média de 5 kDa, apresentaram uma zona inibição *Salmonella Typhimurium* (26 mm), *Escherichia coli* (18,6 mm), *Bacillus cereus* (13,6 mm) e *Staphylococcus aureus* (15,6) em todas as bactérias avaliadas. Segundo esses autores, a atividade antimicrobiana do soro de leite caprino pode ser devida a presença de substâncias que reconhecidamente apresentam esta bioatividade, tais como imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase e lisozima (SARMADI et al., 2010; ELIAS et al., 2005).

O mecanismo de ação desses peptídeos ocorre pela ligação com estruturas da membrana celular, que são carregadas negativamente levando ao seu rompimento, o que pode ser verificado pela presença de frações derivadas da β -lactoglobulina que apresentam carga líquida positiva. Entretanto, todas as possíveis frações da α -lactoferrina presentes no hidrolisado, apresentam carga elétrica negativa, o que indica que são estes os peptídeos responsáveis pela atividade antimicrobiana (Osman et al., 2015; Sarmadi et al., 2010; Elias et al., 2005).

Corrêa et al. (2018) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de peptídeos anfipáticos do soro de leite nas concentrações de 1 a 5000 mg/L, utilizando o método de microdiluição em placas de 96 poços. Neste experimento, foram testados dois peptídeos de 16 e 6 aminoácidos,

relativos às frações f145-160 da β -caseína, e, f77-82 da β -lactoglobulina, frente às bactérias *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (concentração de aproximadamente 3×10^8 células/ mL), aos fungos *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum* (concentração de aproximadamente 2×10^4 esporos/ mL). Entretanto, não foi possível verificar atividade antimicrobiana, o que pode ser explicado por diferentes mecanismos de resistência constitutiva e induzida. Contudo, não deve ser descartada a possibilidade de os peptídeos terem ocasionado alterações moleculares nos microorganismos, embora sem resultar na inibição de sua multiplicação, uma vez que outros estudos de investigação de atividade antimicrobiana de peptídeos bioativos presentes no hidrolisado do soro de leite e derivados vem se mostrando promissores.

Souza et al. (2019) realizaram a hidrólise de um concentrado proteico de leite bovino utilizando a enzima Alcalase, o qual atingiu um grau de hidrólise de 27%. O hidrolisado foi testado a uma concentração de 0,2 g/mL em tampão fosfato de sódio (pH 7,4) e avaliado pelo teste de disco difusão em cepas de *Salmonella choleraesuis* subsp. Enteritidis e *Listeria monocytogenes*, que não apresentaram halos de inibição. Esses autores sugerem, que o hidrolisado não apresentou atividade antimicrobiana pois não foram utilizadas frações purificadas e concentradas, ou devido ao tamanho dos peptídeos obtidos, uma vez que peptídeos que apresentam entre 2 e 20 aminoácidos conseguem transpassar a membrana celular com mais facilidade apresentando atividade antimicrobiana.

4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os processos oxidativos são comuns dentro do organismo e fazem parte de funções metabólicas, as quais possuem mecanismos de regulação dos níveis corretos de agentes oxidativos nas células. Entretanto, tal como descrito por Nasri (2017), os processos oxidativos que ocorrem em decorrência do excesso de radicais livres e de espécies reativas de oxigênio no organismo podem ser extremamente danosos para as células ocasionando o seu envelhecimento e, eventualmente, a sua morte, através do desencadeamento de reações como oxidação do DNA e de proteínas e a peroxidação de lipídios. Estes processos oxidativos estão relacionados ao aparecimento de doenças como diabetes, câncer, fibrose cística, entre outros (MINJ et al., 2020). Neste sentido, os peptídeos bioativos encontrados em hidrolisados proteicos do soro de leite apresentam grande potencial de aplicação dada a sua atividade antioxidante, sendo que a proteína β -lactoglobulina, um dos principais componentes do soro de leite, é um precursor para a obtenção desses peptídeos bioativos (LE MAUX et al., 2016; SOUZA, et al., 2019). A atividade antioxidante é observada também nas proteínas do soro de leite e está relacionada ao mecanismo de ação,

composição dos aminoácidos (ácidos e básicos), massa molecular e sequência aminoacídica dos peptídeos (SOUZA et al., 2019; LORENZETTI, 2018).

Souza et al. (2019) avaliaram a atividade antioxidante do soro de leite bovino, obtido através de hidrólise utilizando a enzima Alcalase, atingindo grau de hidrólise de 63%. Estes autores avaliaram a atividade antioxidante por métodos de captura de radicais livres, o radical peroxil e o radical ABTS⁺. O método de captura do radical peroxil apresentou melhores resultados quando comparado com o método ABTS, devido ao fato de que o triptofano e a tirosina (aminoácidos presentes nos peptídeos bioativos do hidrolisado) têm a habilidade de agir como doadores de hidrogênio. Além disso, o mecanismo oxidativo do peroxil age através da captura de hidrogênio, o que é mais similar aos mecanismos biológicos de oxidação em relação a oxidação provocada pelo ABTS⁺, que age através da transferência de elétrons (LIMA, 2008).

Abubakr (2016) investigou o uso de hidrolisados de leite desnatado como agentes antiescurecimento em fatias de pêras asiáticas (*Pyrus pyrifolia*) e de batatas (*Solanum tuberosum*). O escurecimento enzimático é ocasionado sobretudo, pela ação da enzima polifenoloxidase que, em presença de O₂, oxida compostos fenólicos convertendo-os em pigmentos de cor escura (SUTTIRRAK et al., 2011). A eficiência dos hidrolisados contra o escurecimento enzimático foi comparada com a eficiência de agentes antiescurecimento utilizados comercialmente, como ácido ascórbico e ácido cítrico. Os resultados obtidos indicaram que os hidrolisados de leite desnatado têm eficiência similar aos agentes comerciais antiescurecimento. Devido a isto, eles são uma alternativa para esse processo, além de possibilitarem a elaboração de alimentos enriquecidos em compostos antioxidantes (ABUBAKR, 2016).

Verdi (2017), produziu hidrolisados de concentrado proteico de soro de leite bovino com a enzima Alcalase, à 55 °C, em pH 8,5 em diferentes tempos reacionais, atingindo diferentes graus de hidrólise. A atividade antioxidante dos hidrolisados foi avaliada *in vitro* através do método de captura do radical ABTS⁺. Nos testes realizados, observou-se que a atividade antioxidante aumentava com o acréscimo do grau de hidrólise de 15% para 22,4%. Entretanto, após essa faixa para os hidrolisados com GH entre 23,2% e 25,6%, observou-se uma diminuição na atividade antioxidante. Estes resultados sugerem que existe um grau de hidrólise crítico, a partir do qual a quebra das proteínas e o menor tamanho e/ou estrutura dos peptídeos formados interfira de maneira negativa na sua atividade antioxidante.

Kong et al. (2012) elaboraram um hidrolisado de soro de leite com a enzima Alcalase, a fim de avaliar a eficácia de proteção de peptídeos bioativos isolados a partir do hidrolisado contra o efeito oxidativo do peróxido de hidrogênio sobre células MRC-5 de fibroblasto de pulmão humano. O hidrolisado atingiu grau de hidrólise de 38,5%, sendo isolada uma amostra contendo

peptídeos na faixa de tamanho de 0,1-2,8 kDa por cromatografia. Dessa amostra, foi possível isolar o peptídeo de sequência aminoacídica Valina-Histidina-Leucina-Lisina-Prolina. A sua atividade antioxidante foi avaliada através da exposição das células MRC-5 incubadas com peróxido de hidrogênio ao peptídeo bioativo, sendo possível observar um aumento na atividade das enzimas superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase no interior das células, além de reduzir os níveis de malonaldeído, o que aumentou a taxa de sobrevivência da célula de 22,5% para 66,1%, em relação aquelas que não foram expostas aos peptídeos bioativos.

Piccolomini et al. (2012) identificaram, a ação de peptídeos bioativos do hidrolisado do soro de leite sobre células de adenocarcinoma colorretal epitelial humano, nas quais observou-se um aumento da glutatona intracelular, implicando em redução do estresse oxidativo e controle da secreção de interleucina IL-8 (agente propagador do estresse oxidativo), mesmo quando as células foram expostas a um agente oxidante forte, como o peróxido de hidrogênio. Diante dos resultados encontrados por esses estudos citados, evidencia-se a utilidade dos peptídeos bioativos presentes nos hidrolisados de soro de leite e derivados como agentes antioxidantes tanto para a indústria de alimentos quanto para a aplicação em tratamentos de saúde e melhora da qualidade de vida.

4.3 ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA

Manter a pressão arterial sob controle é essencial para preservar a saúde e reduzir o risco de doenças, tais como o acidente vascular cerebral, ataque cardíaco, insuficiência cardíaca e aneurisma (OLIVEIRA et al., 2019). De acordo com a Sociedade Brasileira de Hipertensão, em documento elaborado por Barroso e colaboradores (2021), os valores normais da pressão arterial sistólica e diastólica máximas são de 120 e 80 mmHg, respectivamente. Os valores acima de 140 mmHg para a pressão sistólica caracterizam hipertensão, sendo que a hipertensão arterial sistêmica (HAS) é considerada uma das maiores causadoras de mortes no mundo, pois aumenta o risco de desenvolvimento de doenças cardíacas cerebrais e renais (OPAS, 2021).

Os agentes anti-hipertensivos podem ser divididos em dois grupos, considerando a sua atuação sobre o sistema renina-angiotensina (SAR) responsável por regular a pressão arterial. No primeiro grupo, os fármacos atuam, principalmente através da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) ou de receptores de angiotensina, inibição direta da renina, ou como β -bloqueadores, enquanto que, no segundo grupo, atuam principalmente, no aumento da diurese, no antagonismo de cálcio e no aumento do volume de água e sódio expelidos pelas células (MACHADO et al., 2021). Embora esses fármacos tenham múltiplos mecanismos de ação, o efeito predominante é a vasodilatação ou diminuição do volume intravascular (MACHADO et al., 2021).

Para além dos fármacos convencionais, existem peptídeos bioativos com propriedade anti-hipertensiva, caracterizados por sua capacidade de inibir a ECA. Esta enzima é responsável pelo aumento da pressão arterial, convertendo a angiotensina-I no potente vasoconstritor angiotensina-II, e degradando as encefalinas e a bradicinina, um peptídeo vasodilatador, que por sua vez regula a pressão arterial através do equilíbrio de água e sal no corpo (KORHONEN et al., 2006; DA SILVA et al., 2021). Nesse sentido, é interessante perceber que o soro de leite possui em sua composição as proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, que quando hidrolisadas formam peptídeos bioativos que apresentam atividades inibidoras da ECA, o que constitui a capacidade de reduzir a pressão arterial como uma das bioatividades de maior interesse no estudo dos peptídeos bioativos, respectivamente (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2008; BRANDELLI et al., 2015; ZHAO et al., 2020).

Baba et al. (2021) elaboraram hidrolisados de soro de leite de camelo utilizando pepsina como enzima em diferentes condições de relação enzima/substrato, temperatura e tempo reacional. Os resultados obtidos da inibição da ECA sugerem que a condição ótima foi a hidrólise realizada a 37 °C, com uma relação enzima/substrato de 0,5 (p/p) em um tempo de 120 min, obtendo concentração mínima de inibição de 0,197 mg/mL. Os peptídeos isolados e sequenciados a partir dos hidrolisados que apresentaram a menor concentração mínima de inibição da ECA demonstraram tendência de se ligar a um alto número de sítios ativos (entre 8 a 11 pontos) na enzima. Os autores sugerem com base em análises realizadas a partir do banco de dados *PepSite* que a presença de aminoácidos hidrofóbicos nas três posições carboxi-terminais dos peptídeos bioativos desempenham papel fundamental na inibição da ECA, conforme observado em suas estruturas que apresentam Histidina, Isoleucina e Arginina nas três posições terminais (BABA et al., 2021; TRABUCO et al., 2012).

Costa et al. (2005) elaboraram um hidrolisado de soro de leite bovino com a enzima Alcalase pelo método *pH-stat*, atingindo um grau de hidrólise de 10%. Eles avaliaram o efeito do hidrolisado proteico (0,25 a 1 g/kg peso corporal) sobre a redução da pressão arterial em ratos machos hipertensos (peso entre 270-300 g) em comparação com o Captopril (10 mg/kg de peso corporal) durante 7 dias. Estes verificaram, que com o acréscimo da concentração da hidrolisado foi verificado uma diminuição da pressão arterial, devido a inibição da ECA. Além disso, estes autores verificaram uma redução na taxa de creatinina depurada por cada 100 g de peso corporal dos ratos, que segundo Wright et al. (1992) indica a uma diminuição na taxa de filtração glomerular indicando que o hidrolisado teve ação sobre mecanismos tubulares de conservação de água e sódio, que interferem na reabsorção do sódio durante o transporte tubular, atuando como anti-hipertensivo.

Alvorado et al. (2019) avaliaram a atividade de inibição da ECA de peptídeos bioativos isolados de hidrolisados proteicos do concentrado do soro de leite obtidos a partir da fermentação com *Bacillus subtilis* com graus de hidrólise entre 35 e 40%. Os resultados indicaram que a maior atividade inibitória da ECA (em torno de 80%) foi atingida pelas frações do hidrolisado contendo a maior quantidade de peptídeos curtos (massa molecular menor que 3 kDa), que também tem algumas características comuns como a presença de aminoácidos hidrofóbicos ou catiônicos na porção terminal C da sequência peptídica, como prolina, leucina, fenilalanina, triptofano e tirosina. Esses autores também avaliaram o efeito da encapsulação sobre a liberação dos peptídeos bioativos, em um processo de digestão gastrointestinal simulada *in vitro* com 3 diferentes matérias primas: alginato-colágeno, alginato-gelatina e goma arábica de alginato, sendo que esta última alcançou melhores resultados. Wu et al. (2006) encontraram similaridade em seus resultados com a goma arábica de alginato apresentando maior eficiência de encapsulação (95%). Os peptídeos liberados aumentaram sua atividade de inibição da ECA (85%) após o processo de digestão, em relação à atividade inibitória pré-digestão (74%). Nestes, foi identificado que os resíduos das proteínas β -Lactoglobulina e α -Lactoalbumina foram os principais responsáveis pelas fontes de peptídeos inibidores da ECA, sendo a sua atividade comparável à do Captopril.

Hernández-Ledesma et al. (2007) realizaram testes *in vivo* com ratos machos hipertensos (peso 200-350 g) e as sequências peptídicas de Leucina-Glutamina-Lisina-Triptofano e Leucina-Leucina-Fenilalanina em uma concentração de com 10 mg/kg de massa corporal foram ministradas via oral. Os peptídeos demonstraram efetividade no relaxamento vascular em decorrência da sua atividade inibitória da ECA que atingiu valores IC_{50} (valor médio da máxima concentração de inibição) de 3,5 e 82,4 mg, respectivamente. Os valores máximos de inibição para as sequências peptídicas estudadas foram atingidos após 2 h da administração e foram semelhantes à redução de pressão observada no rato para controle que recebeu Captopril. Estes estudos demonstram que o hidrolisado de soro de leite tem capacidade de inibição da ECA e conseqüente promoção de vasodilatação, sendo que a sua administração resulta em diminuição significativa da pressão arterial (COSTA et al., 2005). Dessa forma, evidencia-se a capacidade anti-hipertensiva dos hidrolisados de soro de leite (PEREIRA, 2019; WU et al., 2006; ALVORADO et al., 2019).

4.4 INIBIÇÃO DA ENZIMA DE DIPEPTIDIL PEPTIDASE IV

Cerca de 382 milhões de pessoas são acometidas por diabetes no mundo e acredita-se que este número aumente em mais de 50% até 2035 (CUNHA, 2019). A diabetes prejudica a capacidade do corpo de produzir ou usar insulina, um hormônio produzido pelo pâncreas que permite ao corpo transformar glicose (açúcar) em energia, atuando na regulação e facilitação do

processo de controle de nível de açúcar do sangue para utilização e geração de energia pelas células (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2020).

A diabetes pode ser controlada com eficácia quando detectada precocemente. No entanto, quando não tratada, pode levar a complicações potenciais que incluem doenças cardíacas, derrame cerebral, danos aos rins e danos aos nervos. Muitos estudos vêm destacando, que o hidrolisado de soro de leite pode ajudar a combater a diabetes através da inibição da enzima de dipeptidil peptidase IV (DPP-IV) (FURTADO, 2019; GAO, et al., 2018; ELZOGHBY, et al., 2020).

Gao et al. (2020) estudaram o hidrolisado de α -Lactoalbumina bovina, obtido utilizando a enzima Alcalase, alcançando um grau de hidrólise de 82%. Estes avaliaram a atividade inibidora da DPP-IV pelas frações relativas do hidrolisado elaborado, onde verificou-se que a fração de com tempo de retenção (300 a 500 min) apresentou 62,9% de inibição. Desta fração identificaram os dois peptídeos que apresentam atividade inibitória mais acentuada, com massas moleculares variando de 929,19 Da e 1016,7 Da, respectivamente.

Gao et al. (2020) submeteram a fração, que apresentou atividade, a identificação da sequência inibitória da DPP-IV, onde verificou-se que os peptídeos referentes às frações de aminoácidos f (30-37) e f(114-122) da α -Lactoalbumina são os responsáveis por essa atividade. Os peptídeos exibem atividade inibitória potente de DPP-IV pela sua capacidade de formar pontes de hidrogênio, interações pi-catiônicas e pontes de sal, de acordo com resultados obtidos pela análise *docking* de energia de ligação entre os peptídeos e os sítios ativos da enzima.

Morato et al. (2012) realizaram um teste *in vivo* com 49 ratos machos (21 dias de idade) para avaliar o efeito da ingestão de diferentes aminoácidos e peptídeos do hidrolisados proteicos do soro sobre o esgotamento da glicose no sangue. Dos componentes do hidrolisado do soro de leite testados, o aminoácido L-isoleucina foi o que mais reduziu os níveis de glicose no sangue e manteve a insulina em concentrações mais elevadas. A L-isoleucina corresponde a 16% da quantidade total de dipeptídeos formados a partir dos aminoácidos de cadeia ramificada presentes no hidrolisado e é obtido a partir da quebra da β -Lactoglobulina. A isoleucina apresenta este efeito pois atua aumentando a absorção de glicose pelas células do tecido muscular através da ativação da translocação da proteína GLUT4 (transportadora de glicose 4) na membrana plasmática (BERNARD et al., 2011).

Ashraf et al. (2021) produziram hidrolisados de soro de leite de camelo utilizando a pepsina como enzima em diferentes condições de razão enzima/substrato (0,5 - 2%), temperatura (30 - 37 °C) e tempo (120 - 360 min) para avaliar o potencial inibitório da enzima DPP-IV. Os hidrolisados produzidos a 30 °C exibiram a maior atividade inibitória com o menor valor de concentração mínima de inibição da enzima (0,44 mg/mL), sendo a condição ótima obtida para os valores de

razão enzima/substrato igual a 1% e tempo reacional igual a 120 min. Os peptídeos das frações que apresentaram maior atividade inibitória foram isolados e identificados. Após a realização de análises computacionais a partir do banco de dados *PepSite*, conclui-se que os peptídeos de sequência aminoacídica Pro-Ala-Gly-Asn-Fen-Leu-Met e Met-Leu-Pro-Leu-Met-Leu foram os principais responsáveis pela atividade inibitória, demonstrando capacidade de se ligarem a mais de 9 sítios ativos da enzima (ASHRAF et al., 2021; TRABUCO et al., 2012).

Souza et al. (2019) demonstraram que, quando o soro de leite ou derivados (como concentrados e hidrolisados proteicos) são degradados, podem atuar nos tecidos musculares e, promovendo o aumento da concentração plasmática de dois aminoácidos fundamentais no organismo humano: a alanina e glutamina (SOUZA et al., 2019). Estes aminoácidos são transportados para o fígado para que a glicose seja produzida, estabilizando a glicemia em períodos de jejum e reduzindo a resposta da insulina após as refeições. Dessa forma, ao elevar as concentrações de ingestão de proteínas do soro do leite, ocorre a redução da liberação de insulina após as refeições, potencializando a ação do fígado no controle da glicemia (VIEIRA, 2018).

4.5 OUTRAS APLICAÇÕES

Diante do futuro promissor em relação às aplicações do soro de leite e derivados, pesquisas vêm sendo desenvolvidas destacando o seu potencial, devido a conter proteínas e vários dos aminoácidos essenciais. Estas proteínas e aminoácidos possuem rápida absorção pelo intestino em comparação com outros tipos de proteína (SOUZA PALU et al., 2020; SOUZA et al., 2019; NOGUEIRA et al., 2019). A fim de se obter os benefícios fornecidos por peptídeos bioativos presentes no soro de leite a estratégia mais utilizada é a hidrólise enzimática controlada através do método *pH-stat* (LORENZETTI, 2018), que utiliza tanto endopeptidases como exopeptidases, ou misturas destas (SOUZA et al., 2019). A preferida é a Alcalase devido a sua característica de grande afinidade com o substrato (NARSI, 2017; SOUZA PALU et al., 2019).

Quando hidrolisados, a α -Lactoalbumina e a β -Lactoglobulina (dois dos principais componentes do soro de leite), liberam peptídeos bioativos que demonstraram efeitos imunomoduladores na ativação e proliferação de linfócitos, regulação de citocinas, produção de anticorpos, aumento fagocítico na capacidade de macrófagos e estimulação da geração de imunoglobulinas (BADR et al., 2017; SOUZA et al., 2019). Além disso, o soro de leite e derivados contêm lactoferrina, lactoalbumina, lactoglobulinas, lactoperoxidase e são ricos em imunoglobulinas. Estes componentes exclusivos podem atuar aumentando a imunidade, promovendo inúmeras bioatividades, tais como: anticancerígena (LORENZETTI, 2018),

antioxidante, imunestimuladora (ALVES et al., 2016; STEFFENS et al., 2020), antimicrobiana, anti-hipertensiva (OLIVEIRA et al., 2019) entre outras (MINJ et al., 2020).

A fim de atenuar o impacto ambiental que este subproduto rico em proteínas e peptídeos bioativos pode causar no meio ambiente devido a alta demanda bioquímica por oxigênio quando descartado em fontes de água na forma de efluente, estudos vêm sendo realizados, tanto para a sua aplicação na forma de fármacos, como na sua utilização para a síntese de polímeros naturais e biodegradáveis (PEREIRA et al., 2020; FAROOQ et al., 2019). Por ser considerado uma matéria prima segura e versátil, vem sendo amplamente investigado como implemento de alimentos funcionais, tais como, bebida funcional com propriedade anticancerígena (MIRANDA, 2018), pães e iogurtes enriquecidos nutricionalmente, filmes biodegradáveis com atividade antioxidante, entre outros (LAPPA et al., 2019; MOURA, 2016).

5 CONCLUSÃO

O reaproveitamento de soro leite possibilita a minimização dos problemas ambientais ocasionados pelo descarte inadequado, que resultam em um aumento de concentração de matéria orgânica nos efluentes e a consequente demanda bioquímica de oxigênio. Neste contexto, alguns derivados, tais como produtos lácteos, concentrado e/ou isolado proteico de soro de leite são largamente produzidos. Como alternativa para o desenvolvimento de produtos com alto valor agregado, inúmeros processos são realizados para a obtenção de peptídeos bioativos a partir destas matérias-primas. Contudo, a hidrólise enzimática é largamente utilizada, pois as enzimas possuem especificidade, altas taxas de reação e não deixam resíduos tóxicos, além da possibilidade de um amplo espectro de enzimas. Neste contexto, o método de *pH-stat* é largamente utilizado para o monitoramento do grau de hidrólise da hidrólise enzimática, pois é possível avaliar o mesmo a cada ponto do processo biotecnológico.

Estes hidrolisados proteicos de soro de leite e derivados apresentam propriedades bioativas em potencial, tais como antimicrobiana, antioxidante, anti-hipertensiva, anticancerígena, antidiabéticas entre outras. Estas bioatividades são dependentes do processo utilizado para a sua obtenção, tais como enzima, pH, temperatura, grau de hidrólise obtido, perfil massa molecular e sequência aminoacídica. A enzima largamente utilizada é a alcalase, devido a sua ampla afinidade com diferentes substratos utilizados. Além disso, o grau de hidrólise influencia no perfil de massa molecular obtido, o que pode influenciar em determinadas bioatividades avaliadas. Entretanto, maiores estudos são necessários para o desenvolvimento em escala industrial destes hidrolisados proteicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro do projeto aprovado no Edital FAPERGS 10/2020 – AUXÍLIO RECÉM-DOCTOR – ARD, e ao Programa de Educação Tutorial – grupo Conexões de Saberes da FURG em Santo Antônio da Patrulha – pelo amparo financeiro aos estudantes envolvidos no projeto.

REFERÊNCIAS

ABREU, Anna R. C. **Níveis de proteína e aminoácidos em dietas para frangos de corte fêmeas abatidos em diferentes idades**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/31571>>. Acesso em: 21 out. 2021.

ABREU, Maria E. C. S. **Complexos ferro-peptídeos de soro de leite: obtenção, caracterização e avaliação do efeito pró-oxidante do ferro e de sua biodisponibilidade por modelo de cultura de células Caco-2**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 2017. Disponível em: <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/322794>>. Acesso em: 21 out. 2021.

ABUBAKR, Maryam A.S. Antibrowning Activity of Bioactive Peptides from Lab-Cultured Skim Milk Hydrolysate. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, v. 5(10) p. 212-228, 2016. DOI: <<http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.510.023>>.

ADLER-NISSEN, Jens. **Enzymic Hydrolysis of Food Proteins**. New York: Elsevier - Applied Science Publishers, 1986.

AGUILAR-TOALÁ, J. E.; L. SANTIAGO-LÓPEZ; C. PERES; C. PERES; H. GARCIA; B. VALLEJO-CORDOBA; A. GONZALEZ-CORDOVA; A. HERNÁNDEZ-MENDOZA. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. **J. Dairy Sci.** v, 100, p. 65–75, 2017 DOI: <<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11846>>.

ALVES, Fillemon E. D. S. B. **Hidrolisado enzimático de farinha de sangue de frango: condições de processo, propriedades físico-químicas, antioxidantes e funcionais**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, 2016. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/58021/R%20-%20D%20-%20FILLEMONT%20EDILLYN%20DA%20SILVA%20BAMBIRRA%20ALVES.pdf?sequenc e=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 21 out. 2021.

ALMEIDA, Cristine; JÚNIOR, Carlos C.; SILVA, Adriane C.; ALVARES, Thiago. Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9(16), 2013. Disponível em: <<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3490>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Alvos glicêmicos: padrões de cuidados médicos em diabetes**. Cuidados com a diabetes, v. 43 (Suplemento 1), p. S66-S76, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.2337/dc20-S006>>.

ASHRAF, Arshida; MUDGIL, Priti; PALAKKOTT, Abdulrasheed; IRATNI, Rabah; GAN, Chee Y.; MAQSOOD, Sajid; AYOUB, Mohammed A. Molecular basis of the anti-diabetic properties of camel milk through profiling of its bioactive peptides on DPP-IV and insulin receptor activity. **Journal of Dairy Science**, v. 104 (1), p. 61-77, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18627>>.

BABA, Waqas N.; BABY, Bincy; MUDGIL, Priti; GAN, Chee-Yuen; VIJAYAN, Ranjit; MAQSOOD, Sajid. Pepsin generated camel whey protein hydrolysates with potential antihypertensive properties: Identification and molecular docking of antihypertensive peptides. **LWT - Food Science and Technology**, v. 143, p. 111135, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111135>>.

BADR, Gamal; RAMADAN, Nancy K.; SAYED, Leila H.; BADR, Badr M.; OMAR, Hossam M.; SELAMOGLU, Zeliha. Why whey? Camel whey protein as a new dietary approach to the management of free radicals and for the treatment of different health disorders. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 20(4), p. 338–349, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.8573>>.

BALDASSO, Camila. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/13453>>. Acesso em: 22 out. 2021.

BAPTISTA, Paulo; VENÂNCIO, Armando. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. 1ª ed. Forvisão. Portugal, Guimarães, 2003. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1822/33398>>. Acesso em: 21 out. 2021.

BARROSO, Weimar K. S. et. al. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, mar. 2021. DOI: <<https://doi.org/10.36660/abc.20201238>>.

BERNARD, Jeffrey R.; LIAO, Yi H.; HARA, Daisuke; DING, Zhenphing; CHEN, Chung Y.; NELSON, Jeffrey L.; IVY, John L. An amino acid mixture improves glucose tolerance and insulin signaling in Sprague-Dawley rats. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 300 (4), p. E752–E760, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00643.2010>>.

BEZERRA, Joadilza da S. **Qualidade do leite em tanques e influência da contagem de células somáticas nas características sensoriais do leite pasteurizado e queijo coalho**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/25543>>. Acesso em: 22 out. 2021.

BRANDELLI, Adriano; DAROIT, Daniel J.; CORRÊA, Ana P. F. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. **Food Research International**, v. 73, p. 149–161, 2015. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.016>>.

BRICK, Tabea; EGE, Markus; BOEREN, Sjef; BOCK, Andreas; VON MUTIUS, Erika; VERVOORT, Jacques; HETTINGA, Kasper. Efeito do processamento intensidade nas proteínas séricas do leite bovino imunologicamente ativas. **Nutrients**, v. 9 (9), p. 963, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.3390/nu9090963>>.

CORRÊA, Jessica A. F.; UDENIGWE, Chibuike; BITTENCOURT, Luciano F. Avaliação in vitro de atividade antimicrobiana de peptídeos anfipáticos derivados de proteínas do soro de leite. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 16, p. 1-6, 2018. DOI: <<http://dx.doi.org/10.7213/1981-4178.2018.16013>>.

COSTA, E. L.; ALMEIDA, A. R.; NETTO, F. M.; GONTIJO, J. A. R. Effect of intraperitoneally administered hydrolyzed whey protein on blood pressure and renal sodium handling in awake spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 1817-1824, 2005. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2005001200010>>.

CUNHA, Tamires B. D.; CRUZ, Thais C. **DIABETES MELLITUS: Perfil dos pacientes submetidos a amputação em Sergipe**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de Tiradentes, 2019. Disponível em: <<http://openrit.grupotiradentes.com:8080/xmlui/handle/set/2470>>. Acesso em: 22 out. 2021.

COSTA, Flávia R.; MARICATO, Emília; DIAS, Anna M. N.; BAPTISTA, Edilene B. Proteínas do soro do leite: propriedades funcionais e benefícios para a saúde humana. **Lecturas: Educación Física y Deportes**, v. 25(272), p. 106-120. DOI: <<https://doi.org/10.46642/efd.v25i272.691>>.

CUSHMAN, David W.; CHEUNG, Hongson S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. **Biochemical Pharmacology**, v. 20(7), p. 1637-1648, 1971. DOI: <[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9)>.

DINIKA, Isfari; VERMA, Deepak K.; BALIA, Roostita; UTAMA, Gemilang L.; PATEL, Ami R. Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 103, p. 57–67, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.017>>.

ELIAS, Ryan. J.; KELLERBY, Sarah. S.; DECKER, Eric. A. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48(5), p. 430–441, 2008. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1080/10408390701425615>>.

ELZOGHBY, Ahmed O.; ABDELMONEEM, Mona A.; HASSANIN, Islam A.; ABD ELWAKIL, Mahmoud M.; ELNAGGAR, Manar A.; MOKHTAR, Sarah; FANG, Jia-You; ELKHODAIRY, Kadria. A. Lactoferrin, a multi-functional glycoprotein: active therapeutic, drug nanocarrier & targeting ligand. **Biomaterials**, v. 263, p. 120355, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120355>>.

EMBRAPA. **O mercado consumidor de leite e derivados**. Circular técnico. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2019a. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1110792>>. Acesso em: 21 out. 2021.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019 - novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais**. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 2019b. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2021.

FARNAUD, Sebastien; EVANS, Robert W. Lactoferrin - a multifunctional protein with antimicrobial properties. **Molecular Immunology**, v. 40(7), p. 395-405, 2003. DOI: <[https://doi.org/10.1016/S0161-5890\(03\)00152-4](https://doi.org/10.1016/S0161-5890(03)00152-4)>.

FRIES, Edionei M.; LUCESI, Júnior D.; COSTA, Juliana M.; RESSEL, Cléberon; SIGNOR, Arcângelo A.; BOSCOLO, Wilson R.; FEIDEN, Aldi. Hidrolisados cárneos proteicos em rações para alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37(4), p. 401-407, 2018. Disponível em: <https://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/37_4_401-407.pdf>. Acesso em: 21 out. 2021.

FURTADO, Celine D. C. **Suplementação de Whey Protein em idosos com Diabetes do tipo 2 submetidos a um programa de exercícios resistidos: pesquisa clínica controlada, randomizada e duplo cego pesquisa clínica controlada e randomizada**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/59322>>. Acesso em: 22 out. 2021.

FAROOQ, Muhammad A.; AQUIB, Md; GHAYAS, Sana; BUSHRA, Rabia; HALEEM KHAN, Daulat; PARVEEN, Amna; WANG, Bo. Whey protein: A functional and promising material for drug delivery systems recent developments and future prospects. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 30 (9), p. 2183-2191, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1002/pat.4676>>.

GAO, Jing; GONG, Han; MAO, Xueying. Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitory Activity and Related Molecular Mechanism of Bovine α -Lactalbumin-Derived Peptides. **Molecules**, v. 25(13), p. 3009, 2020. DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/molecules25133009>>.

GAO, Jing; SONG, Jiajia; DU, Min; MAO, Xueying. Bovine α -Lactalbumin Hydrolysates (α -LAH) Ameliorate Adipose Insulin Resistance and Inflammation in High-Fat Diet-Fed C57BL/6J Mice. **Nutrients**, v. 10 (2), p. 242, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3390/nu10020242>>.

GARCIA, Hélio A. Dossiê Proteínas do Soro do Leite - PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE. **Food Ingredients Brasil**, n. 41, p. 26-49, 2017. Disponível em: <https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201707/2017070501642001500897382.pdf>. Acesso em: 22 out. 2021.

GEORGE, Paul.; KASAPIS, Stefan; BANNIKOVA, Anna; MANTRI, Nitin; PALMER, Martin; MEURER, Barbara; LUNDIN, Leif. Effect of high hydrostatic pressure on the structural properties and bioactivity of immunoglobulins extracted from whey protein. **Food Hydrocolloids**, v. 32(2), p. 286–293, 2013. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.028>>.

GONÇALVES, André F. N. **Hidrolisados proteicos de víscera residual de sardinha na alimentação de trutas arco-íris**. Tese (Doutorado). Universidade do Estado de Santa Catarina, 2019. Disponível em: <https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=7650188>. Acesso em: 22 out. 2021.

GRAM, Lone; RAVN, Lars; RASCH, Maria; BRUHN, Jesper B.; CHRISTENSEN, Allan B.; GIVSKOV, Michael. Food spoilage - interactions between food spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78(1-2), p. 79–97, 2002. DOI: <[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00233-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00233-7)>.

GUZMAN, Maria L.; MARQUES, Margareth R.; OLIVERA, Maria E.; STIPPLER, Erika. Enzymatic activity in the presence of surfactants commonly used in dissolution media, Part 1: Pepsin. **Results in Pharma Sciences**, v. 6, p. 15–19, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.rinphs.2016.02.002>>.

HARAGUCHI, Fabiano K.; ABREU, Wilson D.; PAULA, Heberth D. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19(4), p. 479-488, 2006. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000400007>>.

HEDA, Rajiv; TORO, Fadi; TOMBAZZI, Cláudio R. Physiology, Pepsin. **StatPearls**, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725690/>>. Acesso em 06 dez. 2021.

HENRIQUES, Marta H. F.; GOMES, David M. G. S.; BORGES, Ana R.; PEREIRA, Carlos J. D. Liquid whey protein concentrates as primary raw material for acid dairy gels. **Food Science and Technology**, v. 40(2), p. 361-369, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1590/fst.43218>>.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca; RECIO, Isidra.; AMIGO, Lourdes. β -Lactoglobulin as source of bioactive peptides. **Amino Acids**, v. 35(2), p. 257-65, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s00726-007-0585-1>>.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca; MIGUEL, Marta; AMIGO, Lourdes; ALEIXANDRE, Maria A.; RECIO, Isidra. Efeito da digestão gastrointestinal simulada nas propriedades anti-hipertensivas

de sequências peptídicas sintéticas β -lactoglobulina. **Journal of Dairy Research**, v. 74 (3), p. 336-339, 2007. DOI: <<https://doi.org/10.1017/S0022029907002609>>.

HIJAZIN, Carlos A. H.; SIMÕES, Aline T.; SILVEIRA, Diogo R. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Atitude - Faculdade Dom Bosco de Porto Alegre**, ano IV, n. 7, p. 89-93, 2010. Disponível em: <<https://www.tratamentodeagua.com.br/wp-content/uploads/2016/10/Hidr%C3%B3lise-%C3%A1cida-alcalina-e-enzim%C3%A1tica.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2021.

HOFFMAN, Fernando L. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, n. 9 p. 23-30, 2001. Disponível em: <<http://www.signuseditora.com.br/ba/pdf/09/09%20-%20higiene.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2021.

HOMAYOUNI-TABRIZI, Masoud; ASODEH, Ahmad; SOLTANI, Mozhgan. Cytotoxic and antioxidant capacity of camel milk peptides: Effects of isolated peptide on superoxide dismutase and catalase gene expression. **J. Food Drug Anal**, v. 25, p. 567-575, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.014>>.

HOYLE, Nana T.; MERRITT, John H. Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). **Journal of Food Science**, v. 59, p. 76-79, 1994. DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x>>.

ITAL. **Brasil Dairy Trends 2020**, 1. ed., Campinas: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2017. Disponível em: <<http://brasildairyrends.com.br/index.html>>. Acesso em: 22 out. 2021.

KAMAL, Hina; JAFAR, Sabika; MUDGIL, Priti; MURALI, Chandraprabha; AMIN, Amr; MAQSOOD, Sajid. Propriedades inibidoras de hidrolisados de proteína de soro de leite de camelo para células de câncer de fígado, dipeptidil peptidase-IV e inflamação. **Journal of Milk Science**, v. 101(10), p. 8711-8720, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14586>>.

KORHONEN, Hannu; PIHLANTO, Anne. Bioactive peptides - Production and functionality. **International Dairy Journal**, v. 16(9), p. 945-960, 2006. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.012>>.

KRISSANSEN, George W. Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. **J Am Coll Nutr**, v. 26(6), p. 713S-23S, 2007. DOI: <<https://doi.org/10.1080/07315724.2007.10719652>>.

KONG, Baohua; PENG, Xinyan; XIONG, Youling L.; ZHAO, Xinhui. Proteção de células de fibroblasto pulmonar MRC-5 contra hidrogênio dano oxidativo induzido por peróxido por peptídeos antioxidantes de 0,1-2,8 kDa isolados da proteína de soro de leite hidrolisado. **Food Chemistry**, v. 135, p. 540-547, 2012. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.122>>.

PEREIRA, Aline M. **Encapsulamento de hidrolisados proteicos de *Spirulina* para aplicação em alimentos**. Tese (doutorado). Universidade Federal do Rio Grande, 2020. Disponível em: <<https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/0000013612.pdf>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

LAPPA, Iliada, K.; PAPADAKI, Aikaterini; KACHRIMANIDOU, Vasiliki; TERPOU, Antonia; KOULOGLIOTIS, Dionynisios; ERIOTOU, Effimia; KOPSAHELIS, Nikolaos. Cheese Whey Processing: Integrated Biorefinery Concepts and Emerging Food Applications. **Foods**, v. 8 (8), p. 347, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.3390/foods8080347>>.

LE MAUX, Solène; NONGONIERMA, Alice B.; BARRE, Chloé; FITZGERALD, Richard J. Enzymatic generation of whey protein hydrolysates under pH-controlled and non pH-controlled conditions: Impact on physicochemical and bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 199, p. 246-251, 2016. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.021>>.

LIMA, Alessandro de. **Caracterização química, avaliação antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasiliense, Camb.)**. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo, 2008. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-30042008-090010/pt-br.php>>. Acesso em: 08 dez. 2021.

LIMA, Samantha A. **Caracterização proteica e atividade antibacteriana das proteínas do soro do leite caprino**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15463>>. Acesso em 22 out. 2021.

LÓPEZ, Ana M. Q.; LIMA-COELHO, Sheyla F.; LIRA, Giselda M. Efeito de diferentes concentrações de conservantes sobre o crescimento in vitro de bactérias. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 68, n.1, p. 49-57, 2009. Disponível em: <<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32742>>. Acesso em: 21 out. 2021.

LORENZETTI, Angélica. **Efeito do ultrassom na hidrólise enzimática das proteínas do soro lácteo e disponibilidade in vitro**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/191687>>. Acesso em: 22 out. 2021.

LUPKI, Fernanda B.; DIAS, Pollyanna A.; SILVA, Mauro R.; MORAIS, Harriman A. Efeito do PH nas propriedades tecnológicas de concentrado proteico de soro de leite. **Brazilian Journal of Development**, v. 5(11), p. 23036-23059, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.34117/bjdv5n11-031>>.

MACHADO, Lara C.; DOS SANTOS, Júlia F.; DOS SANTOS BARROS, Emilly M.; DE PAULA, Renata A.; PIRES, José G. P. Critérios de escolha de fármacos anti-hipertensivos em adultos. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4(2), p. 6756-6775, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.34119/bjhrv4n2-226>>.

MAIA, Geisa P. A. G. **Uso do murici no desenvolvimento de bebidas lácteas fermentadas com propriedades funcionais**. Dissertação (Mestrado). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2020. Disponível em: <<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1508>>. Acesso em: 22 out. 2021.

MARGON, Renan A.; PINOTTI, Laura M.; FREITAS, Rodrigo R. Hidrólise enzimática da biomassa de eucalipto para produção de bioetanol: uma análise bibliométrica. **Research, Society and Development**, v. 7(4), p. e1474301-e1474301, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.17648/rsd-v7i4.301>>.

MEHANNA, Ahmed S.; DOWLING, Mark. Liquid chromatographic determination of hippuric acid for the evaluation of ethacrynic acid as angiotensin converting enzyme inhibitor. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 19, p. 967-973, 1999. DOI: <[https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(98\)00122-8](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(98)00122-8)>.

MINJ, Shayanti; ANAND, Sanjeev. Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. **Dairy**, v. 1(3), p. 233-258, 2020. DOI: <<https://dx.doi.org/10.3390/dairy1030016>>.

MIRAHMADIZADEH, Alireza; MARZBAN, Maryam; SIADATI, Maryam; TAVANI, Karam; HEMMATID, Abdolrasool. Client Satisfaction with Urban Family Physician and Referral System in the South of Iran: A Repeated Cross-Sectional Study. **J Health Sci Surveillance Sys**, v. 5, n. 2, p. 72-78, 2017. Disponível em: <https://jhsss.sums.ac.ir/article_42835.html>. Acesso em: 21 out. 2021.

MOHANTY, Debapriya; JENA, Rajashree; CHOUDHURY, Prasanta K.; PATTNAIK, Ritesh; MOHAPATRA, Swati; SAINI, Manish R. Milk Derived Antimicrobial Bioactive Peptides - A Review. **International Journal of Food Properties**, v. 19(4), p. 837-846, 2015. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2015.1048356>>.

MORATO, Priscila Neder. **Efeito do consumo das proteínas do soro do leite, componentes peptídicos e aminoácidos nos transportadores de glicose em músculos de ratos**. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 2012. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/254506>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

MORENO-NAVARRETE, José M.; ORTEGA, Francisco J.; BASSOLS, Judit; CASTRO, Antoni; RICART, Wifredo; FERNÁNDEZ-REAL, José M. Association of circulating lactoferrin concentration and 2 nonsynonymous LTF gene polymorphisms with dyslipidemia in men depends on glucose-tolerance status. **Clinical Chemistry**, v. 54(2), p. 301-309, 2008. DOI: <<https://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2007.095943>>.

MOURA, Carolina Soares de. **Efeito do consumo das proteínas, peptídeos e aminoácidos do soro do leite nas heat shock proteins (HSPs) e parâmetros relacionados em ratos**. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 2016. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/325705>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

MUDGIL, Priti; KAMAL, Hina; YUEN, Gan C.; MAQSOOD, Sajid. Characterization and identification of novel antidiabetic and anti-obesity peptides from camel milk protein hydrolysates. **Food Chem**, v. 259, p. 46-54, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.082>>.

NAJAFIAN, Leila; BABJI, Abdul, S. Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate. **Journal of Functional Foods**, v. 9, p. 280-289, 2014. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.003>>.

NASRI, Moncef. Protein Hydrolysates and Biopeptides: Production, Biological Activities, and Applications in Foods and Health Benefits. A Review. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 81, p. 109-159, 2017. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.003>>.

NGOH, Ying Y.; GAN, Chee Y. Enzyme-assisted extraction and identification of antioxidative and α -amylase inhibitory peptides from Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto). **Food Chem**, v. 190, p. 331-337, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.120>>.

NOGUEIRA, Amanda D. C.; OLIVEIRA, Renata A. D.; STEEL, Caroline J. Avaliação de cookies adicionados de hidrolisados proteicos durante a estocagem. **Higiene Alimentar**, v. 33, p. 490-494, 2019. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-21926>>. Acesso em: 22 out. 2021.

NUNES, Lauane; DOS SANTOS, Milla G. Caracterização físico-química de soros obtidos de diferentes tipos de queijos. **Horizonte Científico**, v. 9, n. 2, 2015. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/horizontecientifico/article/view/31172>>. Acesso em: 21 out. 2021.

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. **Mundo tem mais de 700 milhões de pessoas com hipertensão não tratada**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/25-8-2021-mundo-tem-mais-700-milhoes-pessoas-com-hipertensao-nao-tratada>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

OSMAN, Ali; EL-HADARY, Abdalla; KORISH, Aida A.; ALNAFEA, Haifa M.; ALHAKBANY, Manan A.; AWAD, Awad A.; ABDEL-HAMID, Mahmoud. Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibition and Antioxidant Activity of Papain-Hydrolyzed Camel Whey Protein and Its Hepato-Renal Protective Effects in Thioacetamide-Induced Toxicity. **Foods**, v. 10(2), p. 468, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.3390/foods10020468>>.

OSMAN, Ali; GODA, Hannah A.; ABDEL-HAMID, Mahmoud; BADRAN, Sanna M.; OTTE, Jeanette Antibacterial peptides generated by Alcalase hydrolysis of goat whey. **LWT-Food science and technology**, v. 65, p. 480-486, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.043>>.

OLIVEIRA, Stephany L. F. de; FRANCISCO, Thais de J.; SANTOS, Hugo M.; APARECIDA, Cesar N.; DE LIMA, Patrícia R. Fatores de risco para quedas em idosos no domicílio: um olhar para a prevenção. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2(3), p. 1568-1595, 2019. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/1390>>. Acesso em: 22 out. 2021.

PEREIRA, Giovanna N. O. **Desenvolvimento e Avaliação de Bebida Láctea não Fermentada Adicionada de Concentrado Proteico de Soro de Leite (WPC) e Sucralose**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/123456789/1394>>. Acesso em: 22 out. 2021.

PICCOLOMINI, André; ISKANDAR, Michèle M.; LANDS, Larry C.; KUBOW, Stan. High hydrostatic pressure pre-treatment of whey proteins enhances whey protein hydrolysate inhibition of oxidative stress. **Food & Nutrition Research**, v. 56, p. 17549, 2012. DOI: <<http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v56i0.17549>>.

REDWAN, Elrashdy M.; UVERSKY, Vladimir N.; EL-FAKHARANY, Esmail M.; AL-MEHDAR, Hussein. Potential lactoferrin activity against pathogenic viruses. **Comptes Rendus Biologies**, v. 337(10), p. 581-595, 2014. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.08.003>>.

ROCHA, Gabriela F.; KISE, Francisco; ROSSO, Adriane M.; PARISI, Mónica G. Potential antioxidant peptides produced from whey hydrolysis with an immobilized aspartic protease from *Salpichroa organifolia* fruits. **Food chemistry**, n. 237, p. 350-355, 2017. DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.112>>.

SARMADI, Barareh H.; ISMAIL, Amin. Antioxidative peptides from food proteins: a review. **Peptides**, v. 31(10), p. 1949-1956, 2010. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>>.

SCHMIDT, Michele M.; FONTOURA, Andrine M. D.; VIDAL, Alessandra R.; DORNELLES, Rosa C. P.; KUBOTA, Ernesto H.; MELLO, Renius D. O.; CANSIAN, Rogério L.; DEMIATE, Ivo M.; OLIVEIRA, Cristina S. D. Characterization of hydrolysates of collagen from mechanically separated chicken meat residue. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 355-362, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1590/fst.14819>>.

SGARBIERI, Valdemiro C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17(4), p. 397-409, 2004. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1415-52732004000400001>>.

SHANG, Nan; CHAPLOT, S.; WU, J. Food proteins for health and nutrition. **Proteins in Food Processing**, p. 301-336, 2018 Woodhead Publishing. DOI: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00013-9>>.

SILVA, Igor M. O. da; CAROBA, Júlia de S.; THORPE, Matheus A.; SOUZA, Luan K. M. de. Way Angiotensin Converting Enzyme (ACE) II/Ang 1-7/Mas receptor activation as a pharmacological target in cardiac pathologies: a systematic review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e44410313553, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13553>>.

SILVA, M.R.; RODRIGUES, D. F.; SILVA, V. D. M.; MORAIS, H. A.; SILVESTRE, M. P. C. Peptide profile enzymatic hydrolysates from whey protein concentrate obtained by action of pancreatin and papain. **Nutrire - Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 35, p. 97-114. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113129032>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

SILVA, Juliana F. **Processamento UV-C de proteínas do soro do leite: efeitos na estrutura e digestibilidade**. Tese (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, 2019.

SILVA, Maite C. **Hidrolisados enzimáticos do concentrado protéico do soro do leite: remoção de fenilalanina, grau de hidrólise e perfil peptídico**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/URMR-7RYNWK>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

SILVA, Rosana D. O. P.; BUENO, Carlos R. F.; RODRIGUES SÁ, Patrícia B. Z. Aspectos relativos à produção de soro de leite no Brasil, 2007-2016. **Informações Econômicas, SP**, v. 47, n. 2, p. 5-18, 2017. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerRea.php?codTexto=14427>>. Acesso em: 21 out. 2021.

SOUZA PALU, Caroline de; DE FREITAS, Ana C.; RIBEIRO, Ana F.; TONIN, Júlia N.; PEREIRA, Maria E. S.; BIBIANO, Milena; MELO, Victória; RABELO, Raimundo N. Tecnologia de produção de whey protein. **PUBVET**, v. 14, n. 4, a552, p. 1-4, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n4a552.1-4>>.

SOUZA, Renata S. C. D.; TONON, Renata V.; STEPHAN, Marília P.; SILVA, Caroline M.; PENTEADO, Ana L.; CABRAL, Lourdes M. C.; KUROSZAWA, Louise E. Avaliação do potencial antioxidante de proteínas do soro de leite concentradas por ultrafiltração e hidrolisadas por diferentes proteases comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. e2018021, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1590/1981-6723.02118>>.

STEFFENS, Juliana; PRECI, Daiane; NUNES, Mateus B.; FERNANDES, Ilizandra A.; SEGUENKA, Bruna; VALDUGA, Eunice. Hidrólise de soro de leite ovino difiltrado pela enzima corolase H-pH e avaliação da geração de peptídeos bioativos. **Revista Tecnológica**, v. 29(1), p. 168-183, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.4025/revtecnol.v29i1.51138>>.

SUTTIRAK, Weerayuth; MANURAKCHINAKORN, Supranee. Potential Application of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxalic Acid for Browning Inhibition in Fresh-Cut Fruits and Vegetables. **Walailak Journal of Science and Technology (WJST)**, v. 7, n. 1, p. 5-14, 2011. Disponível em: <<https://wjst.wu.ac.th/index.php/wjst/article/view/47>>. Acesso em: 8 dez. 2021.

TRABUCO, Leonardo G.; LISE, Stefano; PETSALAKI, Evangelia; RUSSELL, Robert B. PepSite: prediction of peptide-binding sites from protein surfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 40(W1), p. W423–W427, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1093/nar/gks398>>. Aplicação disponível em: <<http://pepsite2.russelllab.org/>>. Acesso em: 8 dez. 2021.

VIEIRA, M. M. A. **Efeito do consumo da proteína Whey na insulinemia e glicemia: Uma revisão Sistemática em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2**. Dissertação (Doutorado). Universidade da Beira Interior, 2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.6/8519>>. Acesso em: 06 dez. 2021.

VERDI, Kátia J. **Produção e caracterização de peptídeos de soro de leite em reator enzimático de membrana utilizando hidrólise sequencial**. Dissertação (Mestrado). Universidade de Passo Fundo, 2017. Disponível em: <<http://tede.upf.br:8080/jspui/handle/tede/1284>>. Acesso em: 22 out. 2021.

WARNCKE, Malou; KIEFERLE, Ingrid; NGUYEN, Thanh M.; KULOZIK, Ulrich. Impact of heat treatment, casein/whey protein ratio and protein concentration on rheological properties of milk protein concentrates used for cheese production. **Journal of Food Engineering**, v. 312, p. 110745, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110745>>.

WRIGHT, F. S.; GIEBISCH G. Regulation of potassium excretion. In: Seldin DW & Giebisch G (Editors), **The Kidney Physiology and Pathophysiology**, Raven Press Ltd., New York, 2209-2247, 1992.

XIONG, Ling; LI, Chengkang; BOEREN, Sjef; VERVOORT, Jacques; HETTINGA, Kasper. Effect of heat treatment on bacteriostatic activity and protein profile of bovine whey proteins. **Food Research International**, v. 127, p. 108688, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108688>>.

ZHAO, Changhui; ASHAOLU, Tolulope J. Bioactivity and safety of whey peptides. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, p. 109935, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109935>>.